

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860036

研究課題名(和文)PET分子イメージング技術による経鼻吸収メカニズム解明と評価法の構築に関する研究

研究課題名(英文)The Analysis on Nasal Drug Absorption Using Positron Emission Tomography

## 研究代表者

新垣 友隆(Shingaki, Tomotaka)

独立行政法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・研究員

研究者番号：60643187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Positron Emission Tomography (PET)により経鼻投与後の薬物吸収可視化と薬液の投与体積、製剤添加物による鼻腔内滞留性の変化を薬物速度論的手法により解析した。また、鼻腔内から脳への薬物直接移行性を視覚的に捉えることに成功した。

PETにより経鼻投与製剤の開発・評価が容易になると同時に、脳への薬物送達の可視化という重要性の高い結果が得られた。また、難血液脳関門透過性薬剤の代替ルートとしての鼻腔-脳への直接移行性評価ツールを開発した点でも非常に意義深く、包括的なPET経鼻吸収性評価システムを構築できた。

研究成果の概要(英文)：To establish the novel development tool for the nasal administration route, PET was performed to visualize the drug distribution pattern in the nasal cavity. The pharmacokinetic evaluation by the mass balance estimations after nasal administration of [18F]FDG was also performed with in silico software, and obtained key factors in the development of nasal dosage formulation, such as rate constants of nasal absorption and mucociliary clearance from PET imaging data. Moreover, we have succeeded visually capturing the direct drug translocation of domperidone from the nasal cavity to the brain by inhibiting the receptor occupancy of intravenously administered [11C]Raclopride, not only pharmacokinetic parameters, but also PET image.

The novel methodology for the quantitative estimation of nasal absorption has been established with PET. PET imaging technology is applicable to the pharmacokinetic investigation on the nasal dosage formulation and the direct drug transport to the brain in vivo.

研究分野：医歯薬学

キーワード：PET 経鼻吸収 DDS 薬物動態学的解析 製剤学

### 1. 研究開始当初の背景

経鼻投与法は、医薬品のライフサイクルマネジメントならびに患者の QOL 改善の観点から、投与経路変更のための促進的技術開発が期待されているが、現状の手法では鼻腔から全身系または中枢への直接移行性に関する薬物動態学的な評価が困難である。

一方、陽電子断層撮影法 (PET) は非侵襲的に PET probe の体内動態をマイクロドーズレベルで評価できることから近年注目されている手法である。

以上のことから、PET 技術を経鼻吸収性の評価システムとして構築することにより、より患者サイドに立った医薬品の開発に貢献できるのではないかとこの着想に到った。

### 2. 研究の目的

本研究では PET probe 経鼻投与後の薬物吸収ならびに鼻腔から脳への直接移行性を可視化し、また薬物動態学的手法により解析することで、実験動物を用いた PET 経鼻吸収性評価システムを確立する。さらには、理研がもつ幅広い PET probe library から薬物を選択し、投与剤形について方法論の最適化ならびに一般化を行い、鼻粘膜透過と製剤特性の関係を明らかにすることで、前臨床から臨床研究への橋渡し技術開発の実現を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) In vivo PET imaging 法による鼻腔内投与のための実験系の構築

汎用性 PET Probe の Glucose 誘導体 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-D-glucose ([<sup>18</sup>F]FDG) を用いて、鼻腔内投与後の吸収過程を観察するための最適な PET 撮像条件の設定ならびに実験動物 (ラット) の保定条件ならびに最適な投与量の設定を行った。

(2) In vivo PET imaging 法による鼻腔内投与後の吸収動態の解明

[<sup>18</sup>F]FDG をラット鼻腔内投与後、PET による撮像を行った。得られた PET 画像を解析することで、投与薬液体積の変化による、鼻腔、咽頭、各脳部位の放射活性の時間推移を定量化した。薬物動態学的モデルをコンピュータ解析することにより、各部位のコンパートメント間の移動速度から得られた鼻粘膜絨毛クリアランス、全身系への吸収速度、鼻腔から脳への直接移行性に関する情報を得た。

(3) In vivo PET imaging 法による鼻腔内投与型 DDS 開発の新たな strategy 確立

上記により得られた撮像条件並びに基礎的な知見を応用して、一般的に用いられている添加剤であるヒドロキシプロピルセルロース (HPC) により薬液の粘度を段階的に変化

させ鼻腔内滞留性を改善した場合の影響について速度論的評価を行った。

(4) 中枢神経系疾患をターゲットとした鼻腔から脳への薬物直接送達の可視化

鼻腔内から脳への薬物直接移行性を評価するため、脳内 D<sub>2</sub> 受容体拮抗 PET プローブである [<sup>11</sup>C]Raclopride を静脈内投与後に PET 撮像を開始し、10 分後に血液脳関門 (BBB) 非透過性の同じく D<sub>2</sub> 受容体拮抗薬である Domperidone の非標識体を鼻腔内投与し、脳へ直接移行した Domperidone による PET プローブの脳内 D<sub>2</sub> 受容体からの追い出し効果を視覚的・薬物動態学的に捕らえることで鼻腔 - 脳直接移行性を評価できるか検証を行った。

### 4. 研究成果

(1) In vivo PET imaging 法による鼻腔内投与のための実験系の構築

[<sup>18</sup>F]FDG を用いて減弱補正や散乱補正の必要性など、PET 画像解析方法の確立を行った結果、MRI 用の頭部固定具を使用することで、試験毎の再現性を向上することが出来た。

しかしながら、伏臥位では薬物が嗅粘膜部位へ到達しづらい、麻酔下の検討のため嚥下作用が期待できず咽頭部へ薬物が集積して三叉神経経路を介した脳直接送達を過大評価する可能性がある、げっ歯類特有の構造である鼻口蓋管を介して鼻腔内に投与された薬物の口腔への流出が薬物動態に大きく影響を与える、などが画像として確認できた。

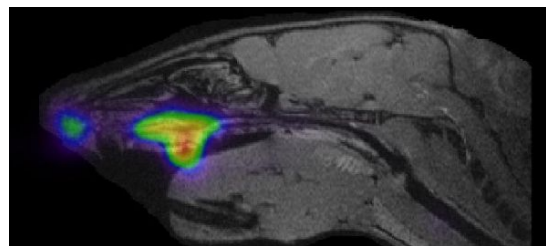


図1 鼻腔内投与された [<sup>18</sup>F]FDG 薬液の鼻口蓋管から口腔への流出

(2) In vivo PET imaging 法による鼻腔内投与後の吸収動態の解明

上記の結果から鼻口蓋管を接着剤で塞いだ状態で検討を行った。PET 画像から投与薬液体積の変化 (5, 15, 25  $\mu$ L) による、鼻腔、咽頭、全身循環血中の放射活性の時間推移を定量化し、得られたデータから薬物動態解析ならびにパラメーター評価を行った結果、良好な最適化ができた。また、鼻粘膜絨毛クリアランスや全身系への吸収速度定数を数値化できた。結果から投与体積の変化は、薬物の挙動や各パラメーターに大きな影響を与えなかった。

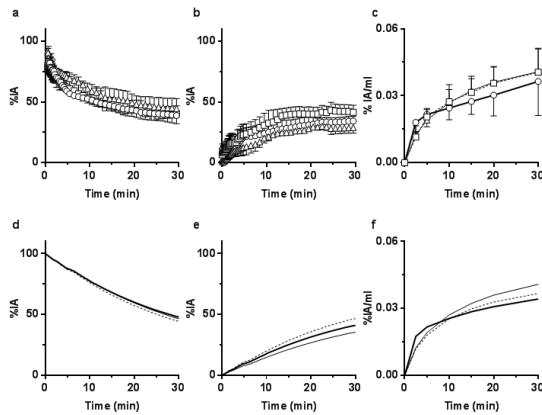


図2  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  投与体積 (5, 15, 25  $\mu\text{L}$ ) を変化させた場合の(a) 鼻腔、(b)咽頭、(c)血中の放射能推移と薬物速度論的手法により最適化した(d) 鼻腔、(e)咽頭、(f)血中の放射能推移

(3) In vivo PET imaging 法による鼻腔内投与型 DDS 開発の新たな strategy 確立  
同様に鼻口蓋管を接着剤で塞いだ状態で検討を行った。PET 画像から HPC によって薬液粘度 (1, 2, 3% HPC) を段階的に増加させた (40, 110, 380  $\text{mPa}\cdot\text{s}$ ) 結果、鼻腔内の薬液の滞留、咽頭への薬液流出の遅延、鼻腔内滞留性向上による全身循環血中の放射活性の増加が、放射活性の時間推移と得られた薬物動態パラメーターから評価できた。

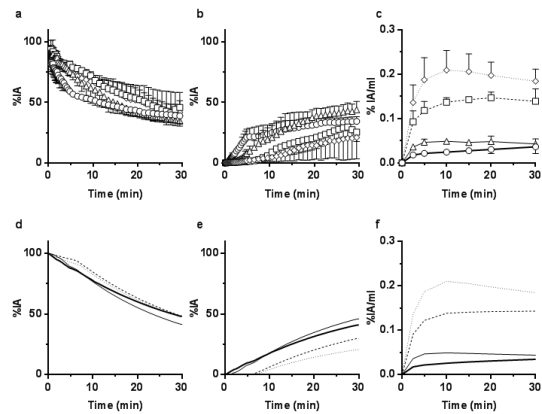


図3  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  投与液の粘度 (0, 1, 2, 3% HPC) を変化させた場合の(a) 鼻腔、(b)咽頭、(c)血中の放射能推移と薬物速度論的手法により最適化した(d) 鼻腔、(e)咽頭、(f)血中の放射能推移

(4) 中枢神経系疾患をターゲットとした鼻腔から脳への薬物直接送達の可視化  
上記の PET 画像から脳部位の  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  薬物濃度推移を定量化したところ、鼻腔に近接する嗅球や脳基底部分は高濃度の鼻腔内  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  による spill-over 現象により脳内濃度の正確な評価ならびに直接移行性の可視化が困難であることが明らかとなった。従って、全く異なるアプローチによる鼻腔内から脳への薬物直接移行性評価研究として、

$\text{D}_2$  受容体拮抗薬  $[^{11}\text{C}]\text{Raclopride}$  用い、これを静脈内投与後に PET 撮像を開始し、10 分後に血液脳関門 (BBB) 非透過性の同じく  $\text{D}_2$  受容体拮抗薬である Domperidone の非標識体を鼻腔内投与した。脳へ直接移行した Domperidone による PET プローブの脳内  $\text{D}_2$  受容体からの追い出し効果を視覚的・薬物動態学的に捕らえることで鼻腔 - 脳直接移行性を次の通り検証可能であった。  $\text{D}_2$  受容体が高密度に存在する線条体に  $[^{11}\text{C}]\text{Raclopride}$  の強い集積が認められた、Domperidone 鼻腔内投与後、わずかではあるが線条体の放射活性推移が低下した、放射活性低下を薬物動態学的手法である小脳 Reference による Logan plot 法により受容体結合能 ( $\text{BP}_{\text{ND}}$ ) を算出したところ、有意差は無いものの明らかな低下が観察された、鼻腔から脳へと直接移行した Domperidone による  $[^{11}\text{C}]\text{Raclopride}$  の  $\text{D}_2$  受容体結合阻害を PET 画像として視覚的に捉えることに成功した。

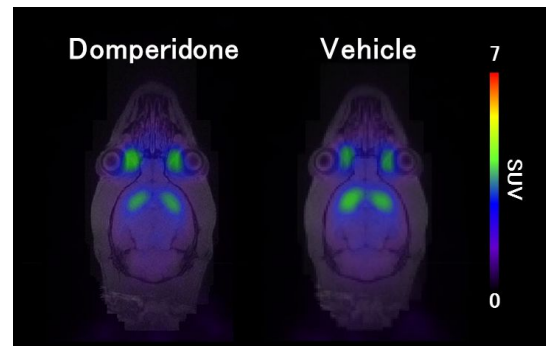


図4  $[^{11}\text{C}]\text{Raclopride}$  静脈内投与 15 分後の PET 画像  
左：PET 開始 10 分後に Domperidone 鼻腔内投与  
右：PET 開始 10 分後に緩衝液のみを鼻腔内投与

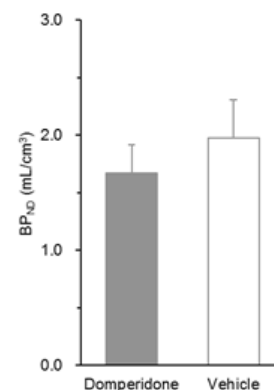


図5 線条体部位の  $[^{11}\text{C}]\text{Raclopride}$  静脈内投与後の Logan reference plot から得られた  $\text{BP}_{\text{ND}}$   
左：PET 開始 10 分後に Domperidone 鼻腔内投与  
右：PET 開始 10 分後に緩衝液のみを鼻腔内投与

薬剤学、特に Drug Delivery System と分子 imaging 研究分野にまたがり、PET を用いることで in vivo における鼻腔内投与後の薬物吸収動態を薬物動態学的に定量的な評価できた点、さらに薬物の鼻腔内挙動を非侵襲的に、また可視的に捉えられた点は、国内外に

において報告された例はほとんど無く、特に鼻腔から脳への直接移行性を可視化した報告は見当たらないことから非常にインパクトが高い独創的な研究であると言える。

今後、膜透過性の異なる PET probe を用い鼻粘膜からの薬物吸収速度や mucociliary clearance の算出、鼻腔から脳への直接移行性におけるによるデータ収集を行うことで、in vivo における鼻粘膜薬物吸収動態の総合的な議論ならびに本手法のさらなる Strategy 構築ができる。また、本手法を中枢神経系の病態へ応用することで臨床 PET による DDS 製剤開発など PET の有用性が広がるものと期待する。

以上、PET imaging 技術により鼻腔内投与型製剤の開発で抱える問題を解決に導き、その情報を基盤とした評価システムを確立することで、鼻腔内投与型医薬品の開発スピード促進、前臨床から臨床研究への橋渡し、医薬品ライフサイクルマネジメントの観点から投与経路変更促進のための技術革新、さらには医療現場での QOL 改善も可能など、非常に意義深い研究と考える。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

新垣 友隆、古林 呂之、坂根 稔康、崔 翼龍、渡辺 恭良、「PET を用いた鼻腔内投与後の薬物動態と直接的脳移行の可視化」、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 25-28 日、神戸学院大学 (兵庫県神戸市)

T. Shingaki, Y. Katayama, T. Okauchi, E. Hayashinaka, Y. Wada, T. Furubayashi, Y. Cui, T. Sakane, and Y. Watanabe. “Positron Emission Tomography study on the Nasal Drug Absorption and Drug Delivery to the Brain” 2014 AAPS Annual Meeting and Exposition, 2014.11.02-04. San Diego (CA, USA).

新垣 友隆、片山 由美子、和田 康弘、崔 翼龍、古林 呂之、坂根 稔康、渡辺 恭良、「Positron Emission Tomography (PET) を用いた経鼻吸収評価系の構築と脳への直接移行性に関する研究」日本薬剤学会第 29 年会、2014 年 5 月 20-22 日、大宮ソニックスティール (埼玉県さいたま市)

T. Shingaki, Y. Katayama, T. Okauchi, E. Hayashinaka, Y. Wada, T. Furubayashi, Y. Cui, T. Sakane, and Y. Watanabe. “The Analysis on Nasal Drug Absorption Using Positron Emission Tomography: The Pharmacokinetic Investigation and the Possibility of the Direct Drug Transport to the Brain” 5<sup>th</sup> FIP Pharmaceutical Sciences World Congress, 2014.4.13-16. Melbourne (Australia)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
なし

#### 6 . 研究組織

##### (1) 研究代表者

新垣 友隆 (Shingaki, Tomotaka)  
独立行政法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・研究員  
研究者番号: 60643187

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし

##### (4) 研究協力者

古林 呂之 (Furubayashi, Tomoyuki)

坂根 稔康 (Sakane, Toshiyasu)